

09/80737



REC'D 23 DEC 1999
WIPO PCT

EP 99/7542

Bescheinigung

4 410

Die AnalytiCon AG Biotechnologie – Pharmazie in Berlin/Deutschland hat eine
Patentanmeldung unter der Bezeichnung

"Verfahren und Vorrichtung zur schnellen flüssigchromatogra-
phischen Trennung von Substanzgemischen und Identifizie-
rung von Substanzen"

am 8. Oktober 1998 beim Deutschen Patent- und Markenamt eingereicht.

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprüng-
lichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patent- und Markenamt vorläufig die Symbole
B 01 D und G 01 N der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 28. Oktober 1999

Deutsches Patent- und Markenamt

Der Präsident

Im Auftrag

Nietiedt

Zeichen: 198 47 439.3

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

GULDE HENGELHAUPT ZIEBIG
PATENTANWÄLTE
European Patent Attorneys
Berlin - München

GULDE HENGELHAUPT ZIEBIG Lützowplatz 11-13, 10785 Berlin

Klaus W. Gulde, Dipl.-Chem.
Jürgen D. Hengelhaupt, Dipl.-Ing. *
Dr. Marlene K. Ziebig, Dipl.-Chem.
Dieter A. Dimper, Dipl.-Ing.*

Lützowplatz 11-13
D-10785 Berlin

Tel.: 030/264 13 30
Fax: 030/264 18 38
e-mail: PatentAttorneys.GHZ@t-online.de
Internet: <http://www.berlin-patent.net>

Unser Zeich./our reference
P46597DE-Gu
Datum/date
Berlin, 08.10.1998

AnalytiCon AG
Biotechnologie - Pharmazie
Tegeler Weg 33
10589 Berlin

Verfahren und Vorrichtung zur schnellen
flüssigchromatographischen Trennung von Substanzgemischen
und Identifizierung von Substanzen

Verfahren und Vorrichtung zur schnellen
flüssigchromatographischen Trennung von
Substanzgemischen und Identifizierung von Substanzen

10

Beschreibung

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren und eine Vorrichtung zur schnellen flüssigchromatographischen Trennung von Substanzgemischen und Identifizierung von Substanzen gemäß den Oberbegriffen der Ansprüche 1 und 5.

Beispielsweise steht in der pharmazeutischen Forschung häufig das Problem aus Substanzgemischen pharmazeutisch aktive Stoffe zu isolieren. So werden Naturstoffextrakte oder auch durch kombinatorische Chemie erzeugte Substanzgemische auf eine mögliche Wirksamkeit getestet. Aus Substanzgemischen die eine Wirksamkeit gezeigt haben, wird dann versucht die wirksamen Substanzen mit Hilfe von aufwendigen Trennverfahren zu isolieren. Danach werden die so isolierten Einzelsubstanzen des Gemisches einem erneuten Wirkungstest unterzogen. Die nun gefundenen wirksamen Einzelsubstanzen werden auf ihre Struktur hin untersucht, um möglicherweise bereits bekannte Wirkstoffe auszuschließen. Ein Nachteil dieses Verfahrens ist, daß bei dem Test der Substanzgemische durch Überlagerungseffekte die Wirksamkeit von Einzelsubstanzen unterdrückt werden kann und diese so unerkannt bleiben. Ein weiterer Nachteil ist, daß durch Überlagerungseffekte eine Wirksamkeit vorgetäuscht werden kann und anschließend kostenintensiv vergeblich nach diesen vermeintlichen

15

20

25

30

35

5 Wirkstoffen im Substanzgemisch gesucht wird. Schließlich erfolgt nachteiligerweise der Ausschluß bereits bekannter Substanzen erst nach der Durchführung von mindestens zwei Tests auf biologische Wirksamkeit und nach aufwendigen 10 Isolationsverfahren, was sehr kostspielig ist. Zur Durchführung dieser Tests sind in der Regel große Substanzmengen nötig, d. h., daß Trennungen im ~~präparativen Maßstab zu erfolgen haben~~. Präparative Anlagen sind aber von den Investitionskosten her teurer als analytische Anlagen. Ebenso verbrauchen 15 präparative Anlagen zur Trennung erheblich mehr Lösungsmittel und Puffersubstanzen, was ihren Betrieb teuer macht und zusätzlich größere Entsorgungsprobleme und Umweltbelastungen hervorruft.

20 Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung und ein Verfahren zur flüssig-chromatographischen Trennung, Isolierung und Identifizierung von Substanzen im analytischen und semipräparativen Bereich anzubieten, mit denen sich ein Test auf Wirkung von Substanzgemischen erübrigt und es schneller als bisher möglich ist Substanzgemische aufzutrennen, die Einzelsubstanzen zu isolieren und zu identifizieren.

30 Die Lösung der Aufgabe erfolgt mit den kennzeichnenden Teilen der Ansprüche 1 und 5.

35 Vorteilhafte Weiterbildungen sind in den Unter-ansprüchen angegeben.

Die Erfindung weist verschiedene Vorteile auf. Die Substanzen müssen nicht mehr doppelt, nämlich vorher im Substanzgemisch und nach der Isolierung getestet

5 werden. Erfindungsgemäß kann der aufwendige und kostspielige und zum Teil fehlerbehaftete erste Wirkungstest der Substanzgemische entfallen. Statt dessen werden nach der kombinierten Isolierung und Identifikation nur potentiell neue Wirksubstanzen 10 weiteren Tests unterzogen. Die bisher übliche kostspielige Bearbeitung bereits bekannter Substanzen entfällt. Der Zeit- und Kostenaufwand für die Ermittlung einer neuen Wirksubstanz kann erheblich reduziert werden. Zusätzlich ist diese 15 Verfahrensweise sicherer, denn die Testergebnisse an unbekannten Einzelsubstanzen sind eindeutig und alle im Gemisch vorhandenen Wirksubstanzen werden auch erfaßt.

20 Die zu untersuchenden Substanzgemische werden in einer zweistufigen Trennung bearbeitet, dabei können durch die erfindungsgemäße Verschaltung von Trennsäulen und Festphasenextraktionssäulen (Auffang- 25 säulen) mit der Pumpeneinheit in der zweiten chromatographischen Trennstufe mehrere Fraktionen aus dem ersten Trennungsschritt parallel getrennt werden. Somit arbeitet diese Vorrichtung erheblich schneller und damit kostengünstiger als bekannte zweistufige Vorrichtungen.

30 Die Identifikation der Einzelsubstanzen erfolgt durch an sich bekannten direkten computergesteuerten Vergleich der von Detektoren gewonnenen Chromatogrammen und Spektren sowie des Retentions- 35 bereiches aus dem ersten Trennschritt und der Retentionszeit aus dem zweiten Trennschritt mit Informationen über bekannte Substanzen in einer Datenbank. Als Detektions- und Identifikations- prinzipien sind Ultraviolet-Absorption, Massen-

5 spektrometrie, Lichtstreuung, Fluoreszenz,
Infrarotspektroskopie und Kernspinresonanz-
spekroskopie möglich. Die Einbeziehung weiterer
Identifizierungsparameter wie z. B. Quelle und
Herkunft der Probe ist möglich. Da weniger Tests zur
10 Identifizierung der Substanzen im Gemisch und zum
Ausschluß bereits bekannter Substanzen notwendig
sind, kann diese Anlage im analytischen und
~~semipräparativen Maßstab dimensioniert~~ sein.
Analytische und semipräparative Anlagen sind in der
15 Anschaffung und im Betrieb wesentlich kostengünstiger
als die bisher üblichen präparativen Anlagen. Durch
den geringeren Lösungsmittel- und Puffersubstanzen-
verbrauch ist das erfindungsgemäße Verfahren und die
Vorrichtung aufgrund geringerer Abfallmengen
20 umweltfreundlich.

Die Erfindung wird anhand einer Zeichnung und eines
Ausführungsbeispiels näher erläutert.

25 Es zeigen

Fig. 1 eine schematische Darstellung des Ablaufes
des Equilibrierens im ersten Trennschritt
und Spülen der Aufgabesäulenbatterie,

30 Fig. 2 eine schematische Darstellung des Auf-
trennens eines Substanzgemisches im ersten
Trennschritt und Adsorption von Fraktionen
an der ersten Auffangsaulenbatterie,

35 Fig. 3 eine schematische Darstellung des Auf-
trennens eines Substanzgemisches im ersten
Trennschritt und Adsorption von Fraktionen
an der zweiten Auffangsaulenbatterie,

5 Fig. 4 eine schematische Darstellung des Auf-trennens eines Substanzgemisches im ersten Trennschritt und Adsorption von Fraktionen an der dritten Auffangsäulenbatterie,

10 Fig. 5 eine schematische Darstellung der Equili-brierung der Trennsäulenbatterien des zwei-ten Trennschrittes,

15 Fig. 6 eine schematische Darstellung einer parallelen Trennung absorbierter Fraktionen im zweiten Trennschritt und

20 Fig. 7 eine schematische Darstellung des Equili-brierens einer Auffangsäulenbatterie.

Fig. 1 bis Fig. 7 zeigen beispielhaft den Aufbau und das Ablaufschema einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mit einer Trennsäule und drei nachgeordneten Trennlinien.

25 Eine Pumpeneinheit 2, die aus drei Pumpen 2.1 bis 2.3 besteht, ist über die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.1 und 3.3 sowie dem 3-Wege-2-Positions-Ventil 5.7 mit einer Aufgabesäulenbatterie 6, einer Trennsäule 10, für die erste Trennungsstufe und einer zweiten Trennstufe, die aus drei parallel betreibbaren Trennlinien besteht, denen jeweils ein 6-Wege-2-Positions-Ventil 3.5, 3.6 und 3.7 vorgeordnet ist, verbunden. Damit ist es möglich, die mobile Phase in jeder gewünschten Zusammensetzung nacheinander und parallel in alle Bereiche der Vorrichtung zu transportieren.

5 Jede Trennlinie weist eine Auffangsäulenbatterie 7, 8 und 9 und eine Trennsäulenbatterie 11, 12 und 13 auf. Beispielhaft enthält die Auffangsäulenbatterie 7 die Auffangsäulen 7.1 bis 7.6 und die Trennsäulenbatterie 11 die Trennsäulen 11.1 und 11.2. Die beiden weiteren
10 dargestellten Trennlinien sind identisch aufgebaut. Andere Varianten mit mehr Aufgabesäulen 6.1 bis 6.6 der Aufgabesäulenbatterie 6, mehrerer Trennsäulen 10, mehr als drei Auffangsäulenbatterien 7, 8 und 9 mit jeweils mehr als sechs Auffangsäulen und mehr als drei Trennsäulenbatterien 11, 12 und 13 mit mehr als sechs Trennsäulen pro Batterie sind möglich.
15

20 Im folgenden wird der Ablauf des erfindungsgemäßen Verfahrens beispielhaft beschrieben. Substanz-
gemischproben werden jeweils in einem Lösungsmittel gelöst und mit einem Adsorbenten versetzt. Anschließend wird das Lösungsmittel mittels eines Rotationsverdampfers entfernt, damit die mit Probenmaterial belegten Adsorbenten rieselfähige
25 Eigenschaften erreichen. Die mit dem Substanzgemisch belegten Adsorbenten werden in die Aufgabesäulen 6.1 bis 6.6 der Aufgabesäulenbatterie 6 verfüllt und in die Aufgabesäulenbatterie 6 eingebaut. Die nun folgenden Programmablaufschritte werden über eine Software gesteuert.
30

35 Gemäß Fig. 1 wird die Trennsäule 10 equilibriert. Parallel dazu wird die Luft aus der Aufgabesäulenbatterie 6 entfernt. Über die Pumpe 2.3, das 3-Wege-2-Positions-Ventil 5.7 und über die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.1 und 3.3 wird mit Wasser die Luft aus einer der trocken verfüllten Aufgabesäulen 6.1 bis 6.6 entfernt, die als nächstes injiziert werden soll. Gleichzeitig wird über die

5 Pumpe 2.1, die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.1 und 3.3
die Trennsäule 10 mit einem geeigneten Laufmittel
equilibriert.

10 In Fig. 2 ist das Auftrennen des Substanzgemisches in
der ersten Trennstufe an der Trennsäule 10 und die
anschließende Adsorption der Fraktionen in einer
Trennlinie mit den Auffangsaulen 7.1 bis 7.6 der
Auffangsaulenbatterie 7 dargestellt.

15 Wenn die Luft aus einer der Aufgabesäulen 6.1 bis 6.6
entfernt ist, wird das Trennprogramm gestartet.
Zunächst werden die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.3
und 3.5 geschaltet. Über eine Niederdruck-
ventileinheit 1 mit den Niederdruckventilen 1.1 bis
20 1.3 können die Bestandteile der mobilen Phase mittels
der Pumpeneinheit 2 in das System eingegeben werden.
Über das Niederdruckventil 1.1 der Pumpe 2.1 und die
Pumpe 2.1 wird mobile Phase transportiert, wobei
dieses System sowohl isokratisch als auch mit
25 einem Gradienten gefahren werden kann. Über das
6-Wege-2-Positions-Ventil 3.3 und die 7-Wege-6-
Positions-Ventile 4.1/4.2 wird die mobile Phase von
Pumpe 2.1 auf diejenige Aufgabesäule 6.1 bis 6.6
geföhrt, von der Probenmaterial bearbeitet werden
soll. Von einer der Aufgabesäulen 6.1 bis 6.6 wird
die zu trennende Probe auf die Trennsäule 10
überführt. Die aus der Trennsäule 10 austretenden
30 getrennten Probekomponenten gelangen über ein 6-Wege-
2-Positions-Ventil 3.4 und den Detektor 14.1 zu einem
T-Stück 17, wo über die Pumpe 2.2 und das 6-Wege-2-
Positions-Ventil 3.1 Wasser der mobilen Phase
zugemischt wird. Die Menge des zugemischten Wassers
richtet sich dabei nach der Polarität der zu
trennenden Substanzen. Die durch Wasser erhöhte

5 Polarität der mobilen Phase ermöglicht nun die Adsorption auf den Auffangssäulen 7.1 bis 7.6 der Auffangssäulenbatterie 7. Über das 6-Wege-2-Positions-Ventil 3.5 wird zunächst auf die Auffangssäulenbatterie 7 adsorbiert. Dabei werden
10 nacheinander die Auffangssäulen 7.1 bis 7.6 mit Fraktionen belegt.

15 In Fig. 3 ist die Adsorption weiterer Fraktionen an den Auffangssäulen 8.1 bis 8.6 der Auffangssäulenbatterie 8 dargestellt. Wenn alle Auffangssäulen der Auffangssäulenbatterie 7 mit Fraktionen belegt sind, schalten die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.5 und 3.6 die Auffangssäulenbatterie 8 in den Eluentenstrom. Nun werden nacheinander die Auffangssäulen 8.1 bis 8.6 mit Fraktionen belegt.
20

25 In Fig. 4 ist die Adsorption von Fraktionen an die Auffangssäulen 9.1 bis 9.6 der Auffangssäulenbatterie 9 dargestellt. Wenn alle Auffangssäulen 8.1 bis 8.6 der Auffangssäulenbatterie 8 mit Fraktionen belegt sind, schalten die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.6 und 3.7 die Auffangssäulenbatterie 9 in den Eluentenstrom. Nun werden nacheinander die Auffangssäulen 9.1 bis 9.6 mit Fraktionen belegt. In dem folgenden Ablaufschritt werden parallel die an den drei Auffangssäulenbatterien 7, 8 und 9 adsorbierten Fraktionen eluiert und auf entsprechend zugeordnete Trennsäulenbatterien 11, 12 und 13 weiter aufgetrennt.
30

35 Vor jeder Trennung werden die Trennsäulenbatterien 11, 12 und 13 equilibriert. In Fig. 5 ist die Equilibrierung der Trennsäulenbatterien 11, 12 und 13 dargestellt. Zur Equilibrierung wird mobile Phase

5 über die Pumpe 2.1 das 6-Wege-2-Positions-Ventil 3.1 und 3.5 auf die Trennsäulen 11.1 bzw. 11.2 der Trennsäulenbatterie 11 geführt. Von dort wird die mobile Phase über das 6-Wege-2-Positions-Ventil 3.4 den Detektor 14.1 und einem Fraktionssammler 15.1 in den Abfall geführt. Parallel dazu werden die Trennsäulen 12.1 und 12.2 der Trennsäulenbatterie über die Pumpe 2.2 die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.1 10 und 3.6 sowie einen Detektor 14.2 und Fraktionssammler 15.2 equilibriert. Ebenso werden dazu parallel die Trennsäulen 13.1 und 13.2 über die Pumpe 2.3 das 6-Wege-2-Positions-Ventil 3.7 und das 3-Wege-2-Positions-Ventil 5.7 sowie einen Detektor 14.3 und einen Fraktionssammler 15.3 equilibriert.

15 20 In Fig.6 ist die parallele Trennung der an den Auffangsäulenbatterien 7, 8 und 9 adsorbierten Fraktionen auf den Trennsäulenbatterien 11, 12 und 13 dargestellt. Zur Einleitung des Trennschrittes wird mobile Phase über die Pumpe 2.1 der Pumpeneinheit 2 25 und die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.1 und 3.5 auf die Auffangsäulenbatterie 7 geführt. Die erste eluierte Fraktion aus der Auffangsäulenbatterie 7 (z. B. von Auffangsäule 7.1) wird über das 6-Wege-2- Positions-Ventil 3.5 zur Trennsäulenbatterie 11 geleitet. Dort kann wahlweise softwaregesteuert eine der Trennsäulen 11.1 oder 11.2 zugeschaltet werden. Die getrennten Komponenten werden dann anschließend über die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.5 und 3.4 zum Detektor 14.1 geführt. Die Software in der 30 elektronischen Steuereinheit wertet die Signale mit Hilfe von Peakerkennung aus und lenkt die getrennten Komponenten in die entsprechenden Vials des Fraktionssammlers 15.1. Gleichzeitig ist auch eine Zeitsteuerung des Fraktionssammlers 15.1 möglich.

5 Diese Zeitsteuerung kann automatisch aktiviert werden, wenn kein Peak den Detektor passiert.

10 Parallel dazu wird mobile Phase über die Pumpe 2.2 und die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.1 und 3.6 zur Auffangssäulenbatterie 8 gefördert. Die erste eluierte Fraktion aus der Auffangssäulenbatterie 8 (z. B. von der Auffangssäule 8.1) wird über das 6-Wege-2-
15 Positions-Ventil 3.6 zur Trennsäulenbatterie 12 geleitet. Dort kann wahlweise softwaregesteuert eine der Trennsäulen 12.1 oder 12.2 zugeschaltet werden. Die getrennten Komponenten werden zum Detektor 14.2 geführt. Die Software wertet auch hier die Signale mit Hilfe von Peakerkennung aus und lenkt dann die getrennten Komponenten in die entsprechenden Vials
20 des Fraktionssammlers 15.2. Auch dieser Fraktionssammler 15.2 kann zeitgesteuert werden. Diese Zeitsteuerung kann automatisch aktiviert werden, wenn kein Peak den Detektor passiert.

25 Parallel zu den Abläufen in zwei Trennlinien wird die dritte Trennlinie hinsichtlich der Einleitung des Trennungsschrittes aktiviert. Dazu wird die mobile Phase über Pumpe 2.3 sowie das 3-Wege-2-Positions-Ventil 5.7 und das 6-Wege-2-Positions-Ventil 3.7 zur Auffangssäulenbatterie 9 gefördert. Die erste eluierte Fraktion aus der Auffangssäulenbatterie 9 (z. B. von der Auffangssäule 9.1) wird über das Ventil 3.7 zur Trennsäulenbatterie 13 geleitet. Dort kann wahlweise softwaregesteuert eine der Trennsäulen 13.1 oder 13.2 zugeschaltet werden. Die getrennten Komponenten werden zum Detektor 14.3 geführt. Die Steuerung des sich anschließenden Fraktionssammlers 15.3 erfolgt wie bereits beschrieben. Nachdem die jeweils ersten
30 Fraktionen parallel bearbeitet worden sind, erfolgt
35

5 zur Vorbereitung und der Trennung der nächsten Fraktionen erneut Equilibrierung der Trennsäulenbatterien 11, 12 und 13 (vgl. Fig. 5). Anschließend schalten die 7-Wege-6-Positions-Ventile 4.3/4.4, 4.5/4.6 und 4.7/4.8 an den 10 Auffangsäulenbatterien 7, 8 und 9 weiter, so daß nun die zweiten Fraktionen bearbeitet werden können, wie in Fig. 6 dargestellt. Diese Vorgänge setzen sich ~~solange fort bis alle Fraktionen bearbeitet worden sind.~~

15 Fig. 7 stellt das Equilibrieren der Auffangsäulen 7.1 bis 7.6 der Auffangsäulenbatterie 7 dar. In diesem Programmablaufschritt werden die Auffangsäulen 7.1 bis 7.6 mit Wasser gespült und so für den nächsten 20 Lauf vorbereitet. Dies erfolgt sequentiell über die Pumpe 2.2, die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.1, 3.5, 3.6, 3.7 sowie die 7-Wege-6-Positions-Ventile 4.3/4.4 der Auffangsäulenbatterie 7. Das Equilibrieren der Auffangsäulenbatterien 8 und 9 erfolgt analog. Die 25 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.5 und 3.6 werden geschaltet und über die Pumpe 2.2 die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.1, 3.5, 3.6, 3.7 sowie die 7-Wege-6-Positionsventile 4.5/4.6 der Auffangsäulenbatterie 8 erfolgt das Equilibrieren der Auffangsäulen 8.1 bis 8.6. Anschließend werden die 30 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.6 und 3.7 geschaltet und über die Pumpe 2.2 die 6-Wege-2-Positions-Ventile 3.1, 3.5, 3.6, 3.7 sowie die 7-Wege-6-Positionsventile 4.7/4.8 der Auffangsäulenbatterie 9 erfolgt das Equilibrieren der Auffangsäulen 9.1 bis 35 9.6. Nach diesem Programmablauf werden die 7-Wege-6-Positions-Ventile 4.1/4.2 der Aufgabebatterie 6 auf die nächste Aufgabesäule (z. B. 6.2) geschaltet und der gesamte Programmablauf beginnt von vorn.

5 (Ablaufschritt 1: Equilibrieren der Trennsäule 10 und
Entlüften der Aufgabesäule 6.2, dargestellt in Fig. 1
usw.)

10 Nach Bearbeitung dieser zweiten Probe kann die
folgende Aufgabesäule 6.3 in den Eluentenstrom
geschaltet werden. Da bereits abgearbeitete
Probeaufgabesäulen jederzeit durch neue ersetzt
werden können, ist ein kontinuierlicher Betrieb mit
einer unbegrenzten Anzahl von Proben möglich.

15 Während des ersten und zweiten Trennschrittes werden
über die Detektoren 14.1, 14.2 und 14.3
Chromatogramme, Retentionsdaten und Spektren
gesammelt, direkt in einem Rechner verarbeitet und
20 mit den Daten bekannter Substanzen verglichen. Somit
lassen sich bereits online bekannte Substanzen
identifizieren und aussortieren. Im Zweifelsfall
können noch weitere Daten, die offline nach Trennung
und Isolierung gewonnen werden, zur Identifikation
25 herangezogen werden.

5

Verfahren und Vorrichtung zur schnellen
flüssigchromatographischen Trennung von
Substanzgemischen und Identifizierung von Substanzen

10

Patentansprüche

15

1. Verfahren zur schnellen flüssig-
chromatographischen Trennung und Identifizierung
von Substanzen
dadurch gekennzeichnet, daß
Substanzgemische in einer softwaregesteuerten
schnellen flüssigchromatographischen Zweistufen-
trennung in der ersten Stufe vorgetrennt und in
der zweiten Stufe die vorgetrennten und in
Auffangsäulen abgelegten Fraktionen in mindestens
zwei Trennlinien parallel fein aufgetrennt, die
fein aufgetrennten Fraktionen parallel
identifiziert und parallel isoliert werden.

25

2. Verfahren nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, daß
in der ersten Trennstufe die Vortrennung von
Substanzgemischen nacheinander und in der zweiten
Stufe die Feintrennung nacheinander und/oder
parallel erfolgt.

35

40

3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2,
dadurch gekennzeichnet, daß
mindestens ein Detektor (14.1) sowohl nach der
ersten Trennstufe als auch nach der zweiten
Trennstufe genutzt wird.

5 4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3,
dadurch gekennzeichnet, daß
die in den Trennlinien aufgetrennten und
isolierten Substanzen einer weiteren Reinigungs-
prozedur insbesondere einer adsorptiven Reinigung
10 unterzogen werden.

15 5. Vorrichtung zur schnellen flüssigchromatischen
Trennung und Identifikation von Substanzen
bestehend aus mehreren Trenn- und Auffangsaulen
sowie Aufgabesystemen Detektoren- und
Fraktionssammler, deren Zusammenwirken über eine
zentrale Steuereinheit steuerbar ist,
dadurch gekennzeichnet, daß
20 mindestens einer Trennsäule (10) mehrere parallele
flüssigchromatographische Trennlinien, bestehend
aus je einer Kombination von Trennsäulenbatterien
(11, 12, 13) mit Auffangsaulenbatterien (7, 8, 9),
Detektoreinheiten (14) und Fraktioniersammler-
einheiten (15), nachgeordnet sind, daß eine
25 Pumpeneinheit (2) bestehend aus drei Pumpen (2.1,
2.2, 2.3) zur Förderung der mobilen Phase sowohl
mit der Trennsäule (10) als auch mit den
Trennlinien funktionell verbunden ist und daß
30 softwaremäßig schaltbare Mehrwegeventile zwischen
den einzelnen Funktionseinheiten angeordnet sind.

35 6. Vorrichtung nach Anspruch 5,
dadurch gekennzeichnet, daß
vor jeder Trennlinie je ein Mehrwegeventil (3.5,
3.6, 3.7) angeordnet ist.

40 7. Vorrichtung nach Anspruch 5 oder 6,
dadurch gekennzeichnet, daß
den Trennlinien nachgeschaltet weitere Auffang-
säulen angeordnet sind.

5

Verfahren und Vorrichtung zur schnellen
flüssigchromatographischen Trennung von
Substanzgemischen und Identifizierung von Substanzen

10

Bezugszeichenliste

- 1 Niederdruckventileinheit
- 1.1 Niederdruckventil
- 1.2 Niederdruckventil
- 1.3 Niederdruckventil
- 2 Pumpeneinheit
- 2.1 Pumpe
- 2.2 Pumpe
- 2.3 Pumpe
- 3 6-Wege-2-Positions-Ventil
- 3.1 6-Wege-2-Positions-Ventil
- 3.3 6-Wege-2-Positions-Ventil
- 3.4 6-Wege-2-Positions-Ventil
- 3.5 6-Wege-2-Positions-Ventil
- 3.6 6-Wege-2-Positions-Ventil
- 3.7 6-Wege-2-Positions-Ventil
- 4 7-Wege-6-Positions-Ventil
- 4.1 7-Wege-6-Positions-Ventil
- 4.2 7-Wege-6-Positions-Ventil
- 4.3 7-Wege-6-Positions-Ventil
- 4.4 7-Wege-6-Positions-Ventil
- 4.5 7-Wege-6-Positions-Ventil
- 4.6 7-Wege-6-Positions-Ventil
- 4.7 7-Wege-6-Positions-Ventil
- 4.8 7-Wege-6-Positions-Ventil

06.02.98 B

5 3-Wege-2-Positions-Ventil
5.1 3-Wege-2-Positions-Ventil
5.2 3-Wege-2-Positions-Ventil
5.3 3-Wege-2-Positions-Ventil
5.4 3-Wege-2-Positions-Ventil
5.5 3-Wege-2-Positions-Ventil
5.6 3-Wege-2-Positions-Ventil
5.7 3-Wege-2-Positions-Ventil

6 Aufgabesäulenbatterie

7.1 Aufgabesäule
7.2 Aufgabesäule
7.3 Aufgabesäule
7.4 Aufgabesäule
7.5 Aufgabesäule
7.6 Aufgabesäule
7 Auffangsäulenbatterie
7.1 Auffangsäule
7.2 Auffangsäule
7.3 Auffangsäule
7.4 Auffangsäule
7.5 Auffangsäule
7.6 Auffangsäule

8 Auffangsäulenbatterie
8.1 Auffangsäule
8.2 Auffangsäule
8.3 Auffangsäule
8.4 Auffangsäule
8.5 Auffangsäule
8.6 Auffangsäule

9 Auffangsäulenbatterie
9.1 Auffangsäulen
9.1 Auffangsäulen
9.2 Auffangsäulen
9.3 Auffangsäulen
9.4 Auffangsäulen
9.5 Auffangsäulen

- 9.6 Auffangssäulen
- 10 Trennsäule
- 11 Trennsäulenbatterie
- 11.1 Trennsäule
- 11.2 Trennsäule
- 12 Trennsäulenbatterie
- 12.1 Trennsäule
- 12.2 Trennsäule
- - 13 Trennsäulenbatterie
- 13.1 Trennsäule
- 13.2 Trennsäule
- 14 Detektoren
- 14.1 Detektor
- 14.2 Detektor
- 14.3 Detektor
- 15 Fraktionssammler
- 15.1 Fraktionssammler
- 15.2 Fraktionssammler
- 15.3 Fraktionssammler
- 16 Abfall
- 16.1 Abfall
- 16.2 Abfall
- 17 T-Stück

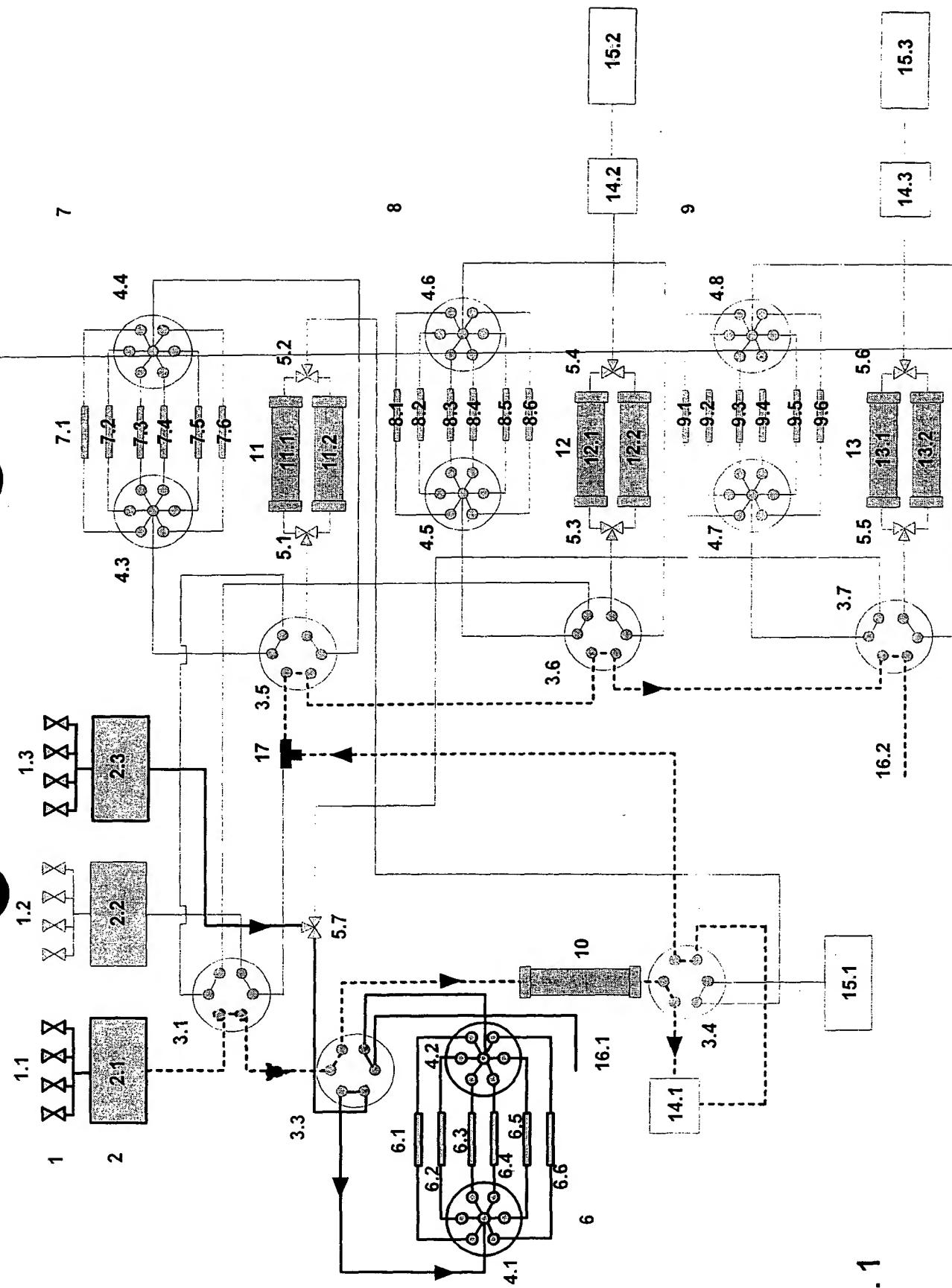


Fig. 1

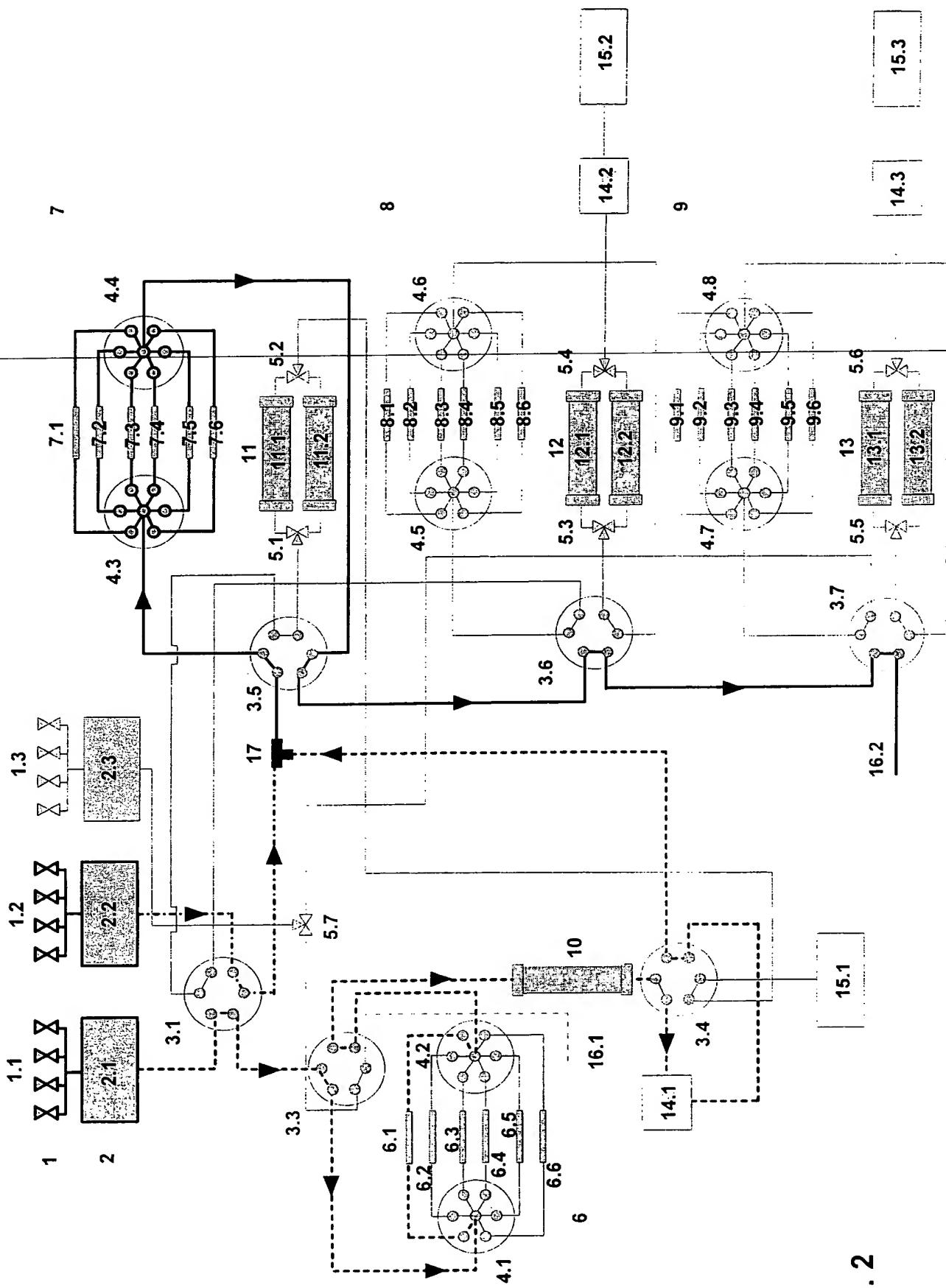


Fig. 2

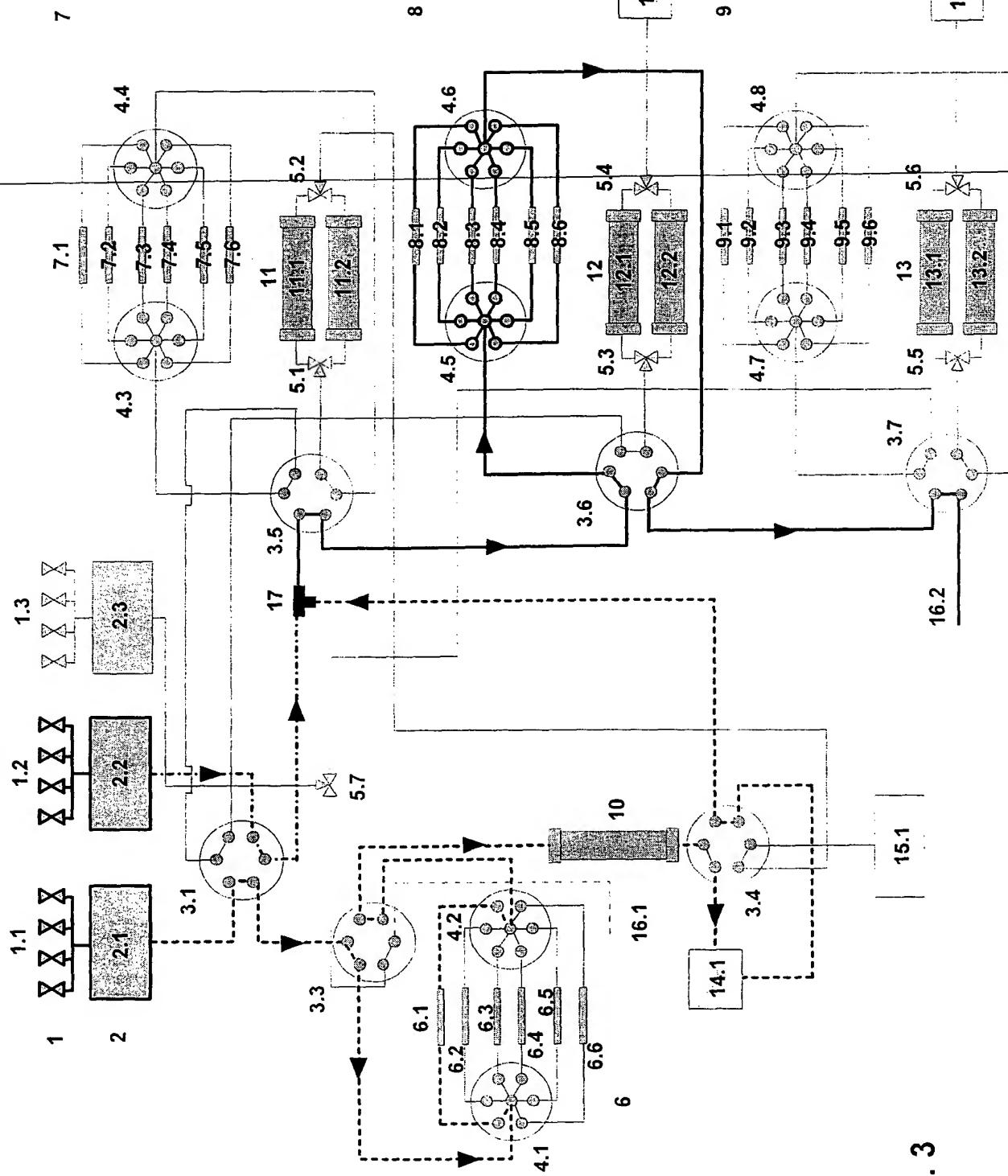


Fig. 3

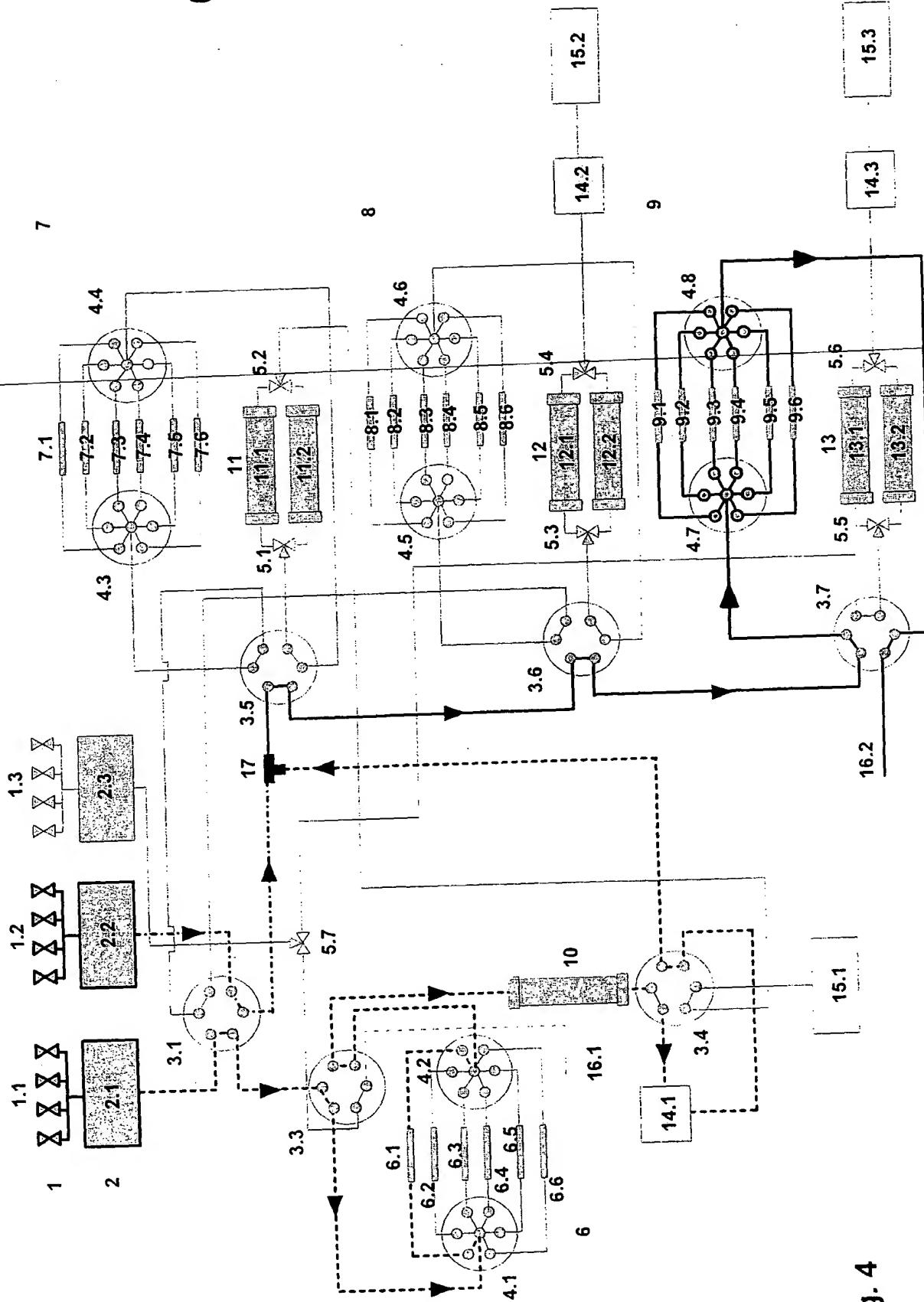
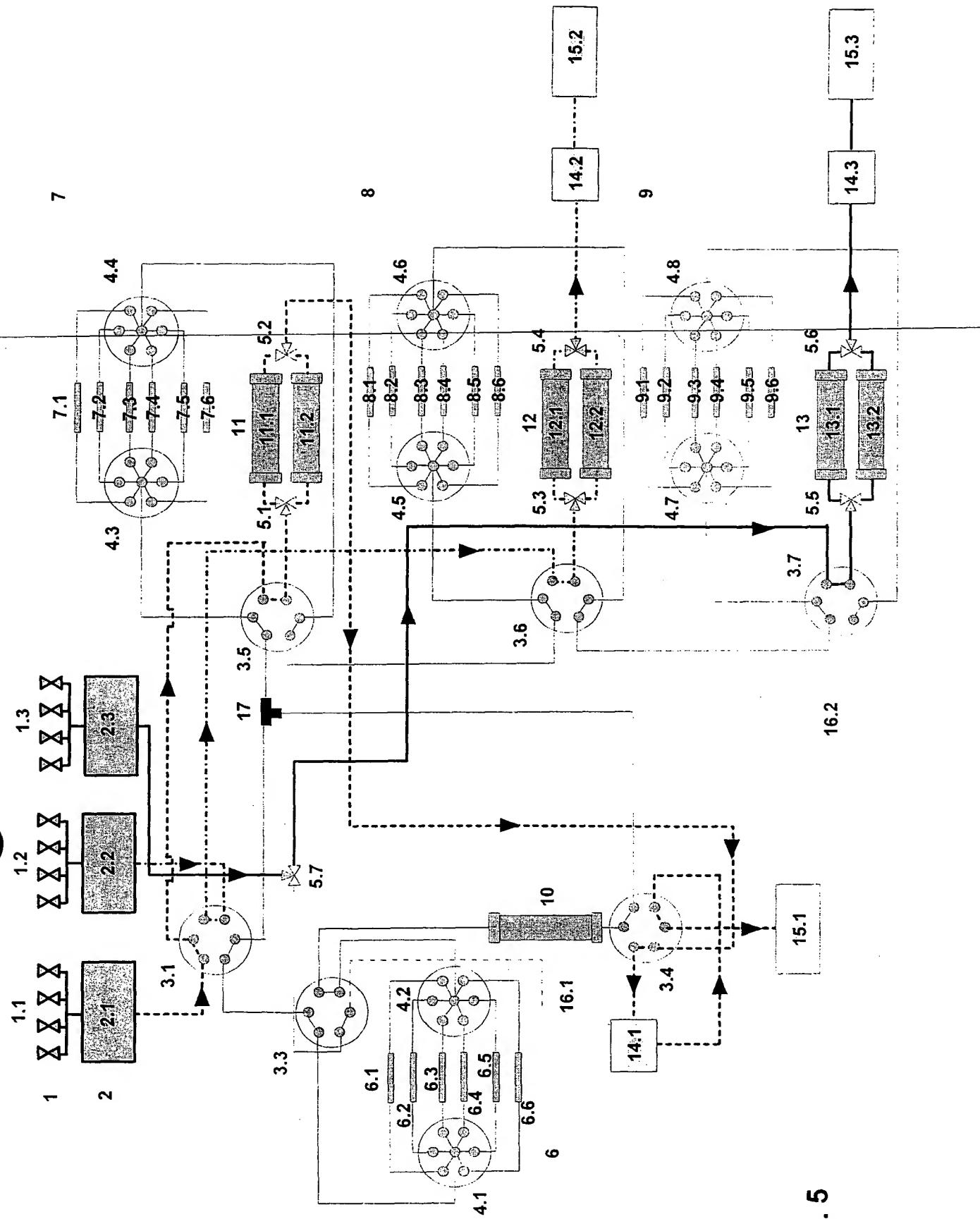


Fig. 4



5
Fig.

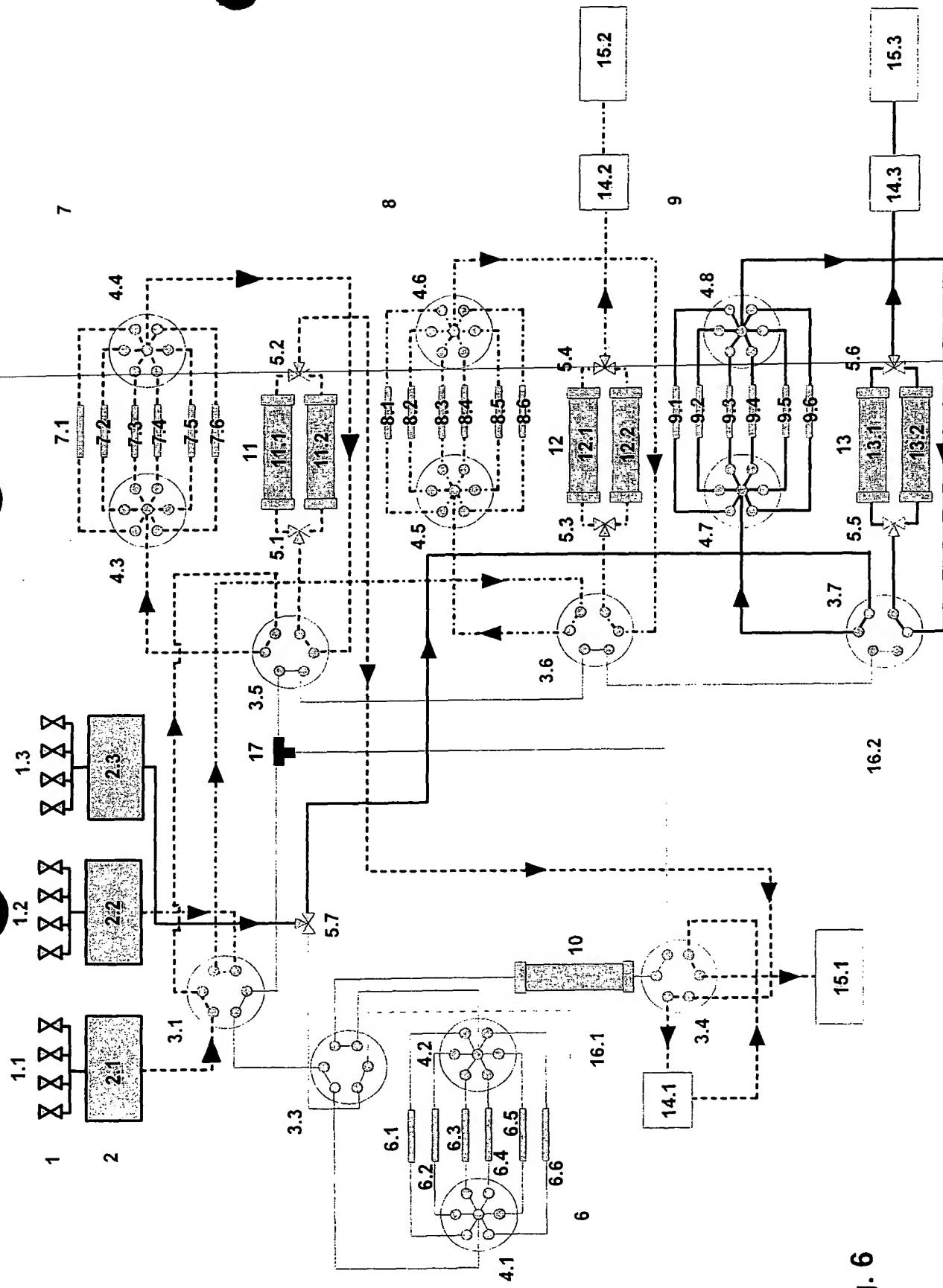


Fig. 6

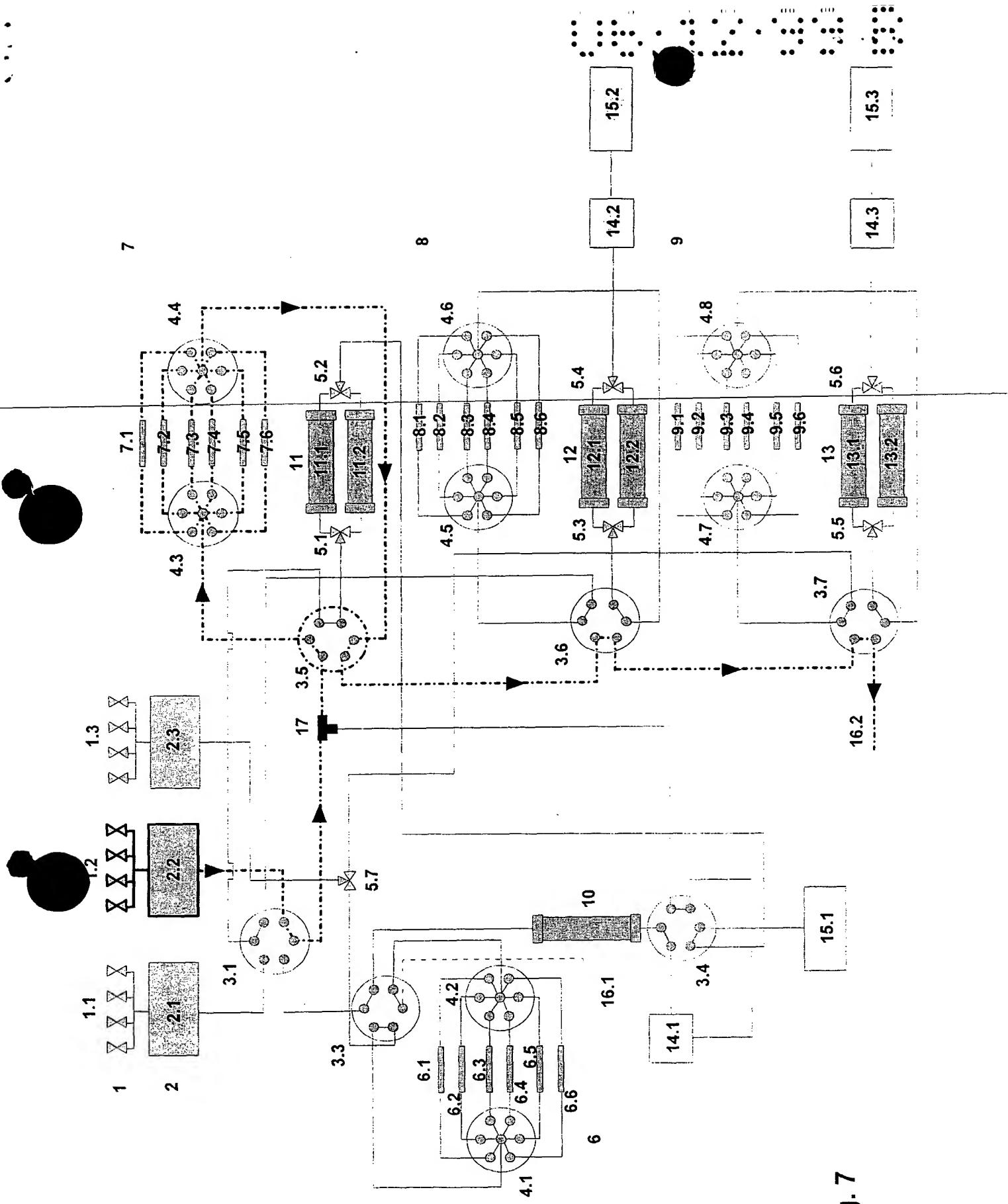


Fig. 7

06.12.99 B

Verfahren und Vorrichtung zur schnellen
flüssigchromatographischen Trennung von
Substanzgemischen und Identifizierung von Substanzen

5

Zusammenfassung

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren und eine
10 Vorrichtung zur schnellen flüssigchromatographischen
Trennung von Substanzgemischen und Identifizierung
von Substanzen.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine
15 Vorrichtung und ein Verfahren zur flüssig-
chromatographischen Trennung, Isolierung und
Identifizierung von Substanzen im analytischen und
semipräparativen Bereich anzubieten, mit denen sich
ein Test auf Wirkung von Substanzgemischen erübrigt
20 und es schneller als bisher möglich ist
Substanzgemische aufzutrennen, die Einzelsubstanzen
zu isolieren und zu identifizieren.

Die Lösung der Aufgabe erfolgt mit einem Verfahren
und einer Vorrichtung, bei denen Substanzgemische in
einer softwaregesteuerten schnellen flüssig-
chromatographischen Zweistufentrennung in der ersten
Stufe vorgetrennt und in der zweiten Stufe die
vorgetrennten und in Auffangsäulen abgelegten
30 Fraktionen in mindestens zwei Trennlinien parallel
fein aufgetrennt, die fein aufgetrennten Fraktionen
parallel identifiziert und parallel isoliert werden
(Fig. 1).

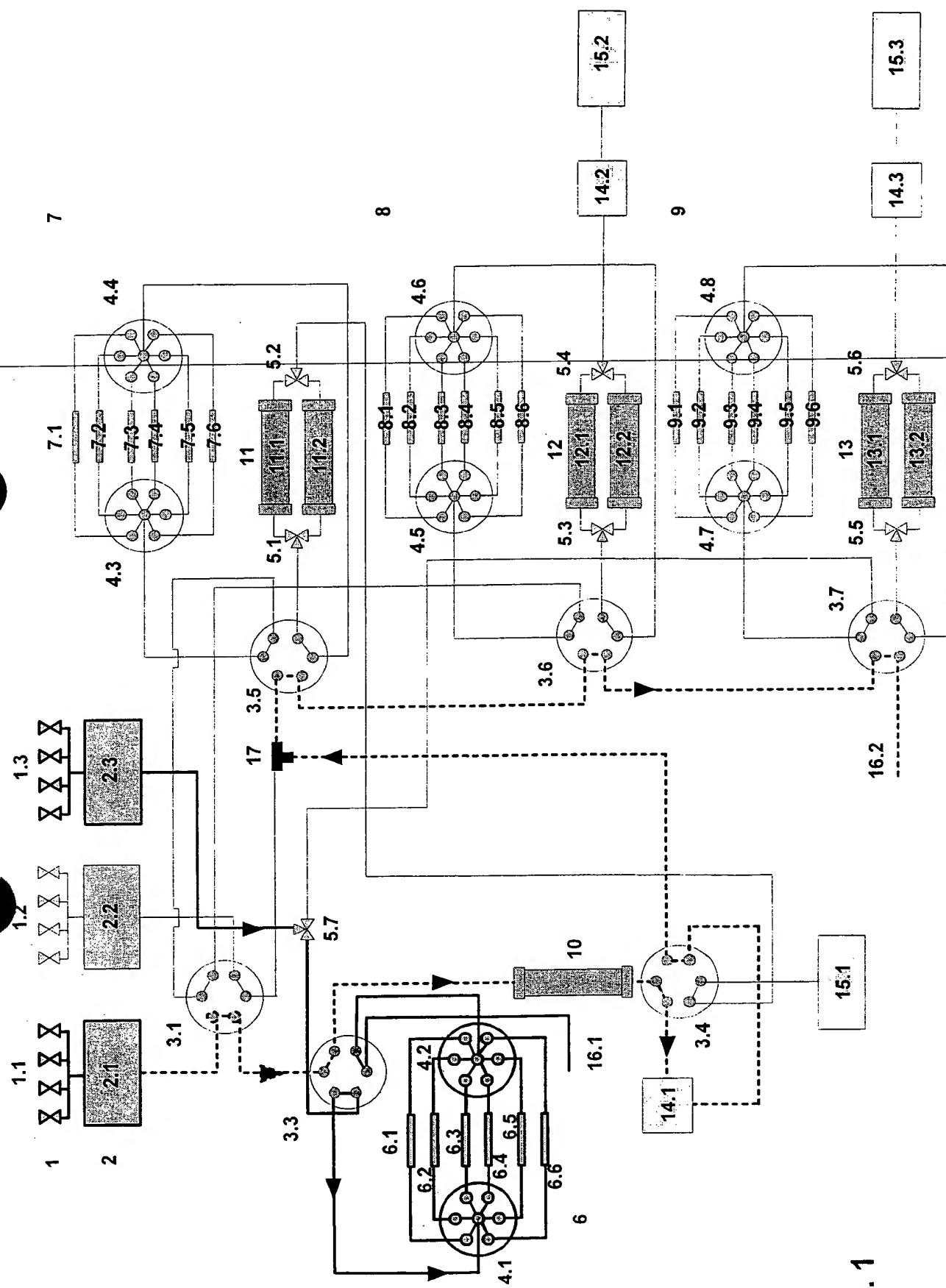


Fig. 1